

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Червяковой Надежды Сергеевны «Оптимизация подходов к установлению аутентичности и консервации коллекционных штаммов патогенных микроорганизмов», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология

Коллекционные штаммы патогенных микроорганизмов широко используются при проведении научно-исследовательских работ, диагностике инфекционных заболеваний, производстве медицинских иммуно-биологических препаратов, а также учебном процессе. При этом важной задачей коллекционных центров является контроль качества стандартных образцов таких штаммов, включающий оценку их подлинности, а также жизнеспособности клеток в препаратах, полученных с применением методов долгосрочной консервации. В этой связи актуальность настоящей диссертационной работы, направленной на оптимизацию подходов к установлению аутентичности коллекционных штаммов с применением фенотипических, молекулярно-генетических и протеомных методов анализа, а также совершенствованию подходов к их долгосрочной консервации, не вызывает сомнений.

Высокая степень достоверности и обоснованности полученных результатов и выводов диссертации указывает на правильный выбор методических подходов. По итогам всестороннего анализа полученных диссертантом данных представлены научные положения, выносимые на защиту, заключение и 6 выводов, которые в достаточной мере аргументированы, отражают содержание диссертации и отвечают цели и задачам исследования.

В автореферате диссертационных исследований Червяковой Н.С. четко представлены степень разработанности проблемы, научная новизна, практическая значимость работы. Автореферат изложен по традиционной схеме и включает все разделы с информационным иллюстрированным материалом.

Автором проведено расширенное изучение 130 коллекционных тест-штаммов патогенных микроорганизмов, принадлежащих к 23 различным родам и 57 видам. Применение методов фенотипического анализа на основе микрообъемных технологий с тест-системой API и автоматического бактериологического анализатора Vitek2, рибопринтинга и масс-спектрометрии по технологии MALDI-TOF позволило провести номенклатурную ревизию коллекционных штаммов патогенных

микроорганизмов, поддерживаемых в Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» (ГКПБ) и используемых в качестве контрольных в научно-практической деятельности, а также определить маркеры их аутентичности.

На основе сведений, полученных с применением вышеуказанных методик, автором была создана единая база данных маркеров аутентичности коллекционных штаммов, и разработан алгоритм ее установления, направленный на обеспечение высокого уровня контроля качества вновь поступающих в коллекционный фонд штаммов и за их стандартных образцов на этапах воспроизводства.

Значительный раздел работы посвящен оптимизации методов долгосрочного хранения коллекционных штаммов в ГКПБ с применением методов низкотемпературного замораживания и лиофилизации. Адаптированный способ низкотемпературного хранения контрольных штаммов патогенных микроорганизмов в ГКПБ ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» позволил на основании рассчитанных прогнозируемых сроков сохранять клетки в интервале от 3 до 60 лет в зависимости от вида патогена и выбранного криопротектора. Показано, что оптимальным криопротектором для штаммов родов *Vibrio*, *Aeromonas*, *Brucella* и *Francisella* является среда, содержащая 12 % обезжиренного сухого молока и 7 % трегалозы, тогда как для остальных микроорганизмов – 2 % протеозопептон с 50 % раствором глицерина. Разработаны протоколы лиофилизации штаммов патогенных микроорганизмов на новых сублимационных установках камерного и коллекторного типов, включающие выбор оптимального лиопротектора и программу лиофилизации. Проведена оценка качества полученных лиофильно высушенных препаратов коллекционных штаммов, основанная на определении в них концентрации жизнеспособных клеток и прогнозируемых сроков хранения образцов.

Анализируя полученные автором результаты, изложенные в автореферате, следует отметить, что каждый этап работы научно обоснован и тщательно проверен экспериментально.

Выводы, сделанные автором, не вызывают сомнения и соответствуют цели и поставленным задачам. Положения, выносимые на защиту, отражают результаты проведенных исследований. Основное содержание диссертации отражено в десяти опубликованных работ, четыре из которых в изданиях, рекомендованных ВАК РФ. Материалы работы нашли применение при подготовке двух методических рекомендаций федерального уровня, утвержденных Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере

защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А.Ю. Поповой, а также пяти методических рекомендациях учрежденческого уровня, утвержденных директором ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора.

Таким образом, диссертационная работа Червяковой Н.С. «Оптимизация подходов к установлению аутентичности и консервации коллекционных штаммов патогенных микроорганизмов» посвящена актуальной проблеме, выполнена на большом материале с использованием современных фенотипических, молекулярно-генетических и протеомных подходов, полученные результаты имеют новизну, теоретическую и практическую значимость, могут быть использованы для обеспечения контроля аутентичности коллекционных штаммов и повышения эффективности их долгосрочного хранения. Диссертационная работа соответствует критериям "Положения о порядке присуждения ученых степеней" пп. 9, 10, 11 и 13, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации N 842 от 24 сентября 2013 г., а её автор Червякова Надежда Сергеевна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Заведующая лабораторией «Коллекция патогенных микроорганизмов»
Федерального казенного учреждения здравоохранения Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,
кандидат биологических наук



Е.Б. Жилченко

Подпись Жилченко Елены Борисовны заверяю:
начальник отдела кадров ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора



В.В. Демченко

31 октября 2017 г.

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора,
355035, г. Ставрополь, ул. Советская, д. 13-15. Тел/факс: (865-2) 26-03-12.
E-mail: snipchi@mail.stv.ru